Die Kohlenhydrat-Zusammensetzung der Flechten

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Vorgelegt von

Dipl.-chem. Gerhard D i e t r i c h ,

geboren zu Hof a.d. Saale

Würzburg 1956

Die Kohlenhydrat-Zusammensetzung der Flechten

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

Vorgelegt von

Dipl.-chem. Gerhard D i e t r i c h ,

geboren zu Hof a.d. Saale

Würzburg 1956

Berichterstatter: Prof. Dr. F. G. Fischer

Eingereicht am: 9. 1. 1956
Tag der mündlichen Prüfung: 15. 2. 1956

R.UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde in den Jahren 1954 und 1955 im Chemischen Institut der Universität Würzburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. F. G. Fischer ausgeführt. Ihm, meinem verehrten Lehrer, möchte ich für alle Anregungen und für die großzügige Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.

M e i n e n E l t e r n g e w i d m e t

Inhaltsübersicht

		Seite
A.	Allgemeiner Teil	1
	I. Einleitung	1
	II. Analysierte Flechten	3
	III. Herstellung der Hydrolysate	5
	IV. Analyse der Hydrolysate	6
	V. Ergebnisse	7
	VI. Diskussion der Ergebnisse	19
	a) Vergleich der Flechten untereinander	22
	b) Vergleich mit anderen Pflanzen	23
	c) Über den Aufbau der Kohlenhydrate	24
	VII. Zusammenfassung	27
B.	Experimenteller Teil	29
	I. Herkunft der Flechten	29
	II. Vorbereitung zur Hydrolyse	29
	III. Bereitung und Entsäuerung der Hydrolysate	30
	a) Aufschluß mit überkonzentrierter Salzsäure	30
	b) Aufschluß mit 75-proz. Schwefelsäure	31
	c) Hydrolyse des Chitins	32
	IV. Qualitativer Nachweis der Monosaccharide	32
	V. Quantitative Bestimmung der Monosaccharide	34
C.	Literaturverzeichnis	39

A) Allgemeiner Teil

I. Einleitung

Wie seit Schwendener (1) bekannt ist, liegt in den Flechten eine Symbiose zwischen Algen und Pilzen vor. Diese Symbiose bedingt Besonderheiten des Stoffwechsels, z.B. die Fähigkeit zur Bildung charakteristischer Stoffwechselprodukte, wie sie den Symbiosepartnern allein nicht zukommt. Das zeigt sich am Beispiel der Flechtensäuren. Weit über hundert dieser Verbindungen wurden schon aus Flechten isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt. Unsere Kenntnisse auf dem Gebiete der Kohlenhydrate hingegen, obwohl diese in den Flechten mengenmässig weit überwiegen, sind noch sehr lückenhaft. Zwar hatte das erstmals von Berzelius (2) untersuchte Lichenin, das sich mit heißem Wasser aus Cetraria islandica extrahieren läßt, wegen seiner Stärkeähnlichkeit ("Flechtenstärke") bereits frühzeitig die Aufmerksamkeit zahlreicher Chemiker auf sich gelenkt; auch wurden später ähnliche Polysaccharide aus anderen Flechten isoliert und untersucht. Doch beschränkte man sich lange Zeit auf die Bearbeitung dieser wenigen, leicht abtrennbaren und einheitlich erscheinenden, wasserlöslichen Polysaccharide.

Erst um die Jahrhundertwende begann man, auch den übrigen in Flechten enthaltenen Kohlenhydraten, die ja zum größten Teil wasserunlöslich sind, Beachtung zu schenken. Insbesondere wurde versucht, Klarheit über die chemische Natur der die Zellwände bildenden Kohlenhydrate zu gewinnen.

Den ersten eingehenderen Beitrag zur Kenntnis der wasserunlöslichen Polysaccharide leistete K. Muller (3). Er fand in den Hydrolysaten der Zellmembranen von Cetraria islandica, Cladonia rangiferina und Evernia

prunastri die beiden Hexosen Glukose und Galaktose und angeblich geringe Mengen von Pentosen (mittels Salzsäuredestillation und Nachweis des gebildeten Furfurols). Wenig später konnten Ulander und Tollens (4) in einer Untersuchung der Kohlenhydrate von sieben verschiedenen Flechten (außer den oben erwähnten noch Stereocaulon pascale, Peltigera aphthosa, Usnea barbata und Cornicularia aculeata) nach der Hydrolyse neben Glukose und Galaktose noch Mannose nachweisen. Ferner versuchten sie den Gehalt an Pentosanen und Methylpentosanen zu bestimmen, ebenfalls durch Furfurol- bzw. Methylfurfurol-Nachweise.

In neuerer Zeit wurde auch die Erforschung der alkalilöslichen Polysaccharide von Cetraria islandica durch Buston und Chambers (5) sowie Granichstädten und Percival (6) in Angriff genommen. Diese Autoren befaßten sich, außer mit der Zusammensetzung, vornehmlich mit dem strukturellen Bau der alkalisch extrahierten Hemizellulosen. Nach Beginn der vorliegenden Arbeit erschien eine Veröffentlichung von Aspinall, Hirst und Warburton (7), sie sich mit den alkalilöslichen Kohlenhydraten von Cladonia alpestris beschäftigte, ebenfalls hauptsächlich unter dem Gesichtspunkt der Strukturaufklärung.

Trotz dieser Ergebnisse blieben jedoch noch viele Fragen offen. So berechtigt die engbegrenzte Zahl untersuchter Beispiele noch nicht zu verallgemeinernden Schlüssen. Vor allem lagen meist nur qualitative Resultate vor, denn auch die zahlenmässigen Angaben über Pentosane und Methylpentosane von Ulander und Tollens mußten als sehr unsicher betrachtet werden. Weiterhin ist es bei der Schwierigkeit der Trennung und Identifizierung von Monosacchariden mit Hilfe der klassischen Methoden der Zuckerchemie ohne weiteres denkbar, daß in geringer Menge vorhandene Komponenten übersehen wurden. War es doch auch früheren Autoren

nicht gelungen, die in Summa nachgewiesenen Pentosen zu identifizieren, so daß ihr Vorkommen in den Flechten nach wie vor problematisch blieb. Weiterhin war auch die Frage, ob das in den Gerüstsubstanzen höherer Pilze regelmäßig zu findende Chitin in Flechten auftritt, als durchaus unbeantwortet zu betrachten.

Die in neuerer Zeit ausgearbeiteten papierchromatographischen Methoden gestatten mit verhältnismäßig geringem materiellen und zeitlichen Aufwand eine ausgezeichnete Trennung und Erkennung der Zucker (8). Die Entwicklung eines genauen Verfahrens zur quantitativen Auswertung der Papierchromatogramme von Zuckergemischen (Fehlergrenze 2 - 3 %) am hiesigen Institut (9) bot nun die Möglichkeit zur Untersuchung der Polysaccharide von Flechten nach ihrer Hydrolyse.

In der vorliegenden Arbeit sollte einerseits eine Übersicht über die quantitative Zusammensetzung der Kohlenhydrate einer größeren Zahl von Flechten gewonnen und andererseits versucht werden, zur Klärung der obenerwähnten strittigen Punkte beizutragen.

II. Analysierte Flechten

Die Untersuchung erstreckte sich auf insgesamt 44 verschiedene Flechtenarten, die alle, mit einer Ausnahme (Sphaerophorus melanocarpus, eine Coniocarpinee), der Ordnung der Cyclocarpineen angehörten. Sie schlossen auch eine Reihe der bekannteren Arten ein, wie Isländisches Moos (Cetraria islandica) und die vor allem in nördlichen Breiten beheimatete und in den Tundren rasenbildende Rentierflechte (Cladonia rangiferina). Zu den häufigsten auf Bäumen vorkommenden Vertretern zählen Parmelia physodes, die abgestorbene Fichtenzweige oft vollständig bedeckt, Parmelia furfuracea und Ever-

nia prunastri. Auch die mit Vorliebe auf moderndem Holz wachsende Becherflechte (Cladonia pyxidata) ist äußerst verbreitet. Die Fuchs- oder Wolfsflechte (Letharia vulpina), bekannt durch ihren Gehalt an der giftigen Vulpinsäure, findet man, ebenso wie die Bartflechten (Usneen), besonders auf Lärchen im Hochgebirge.

Während Cladonien und Usneaceen typische Strauchflechten darstellen, liegen in der Hundsflechte (Peltigera canina) und Lungenflechte (Lobaria pulmonaria) ausgesprochene Laubflechten vor. Als Vertreter der Krustenflechten sei die Caloplaca elegans erwähnt, die in höheren Lagen zuweilen ganze Steinhalden mit ihrer leuchtend orange-roten Farbe überzieht.

Der größte Teil des Untersuchungsmaterials stammt aus dem Alpengebiet (Oberengadin, Umgebung Münchens, Tirol), zum Teil auch aus tropischen Hochwäldern Südamerikas (Venezuela; siehe Exp. Teil, Abschn. I). In zwei Fällen wurden gleiche, aber an verschiedenen Orten gewachsene Exemplare miteinander verglichen. Der in den Tabellen 1 - 3 eingehaltenen Reihenfolge liegt die systematische Einteilung nach Zahlbruckner zugrunde. Die genaue botanische Bezeichnung der Flechten ist im Exper. Teil, Abschn. V, aufgeführt.

Um festzustellen, ob und inwieweit sich die Zusammensetzung der in Wasser und Lauge unlöslichen Polysaccharide, der Membranbestandteile, von der der löslichen unterscheidet, untersuchten wir in sieben Beispielen ausser der unvorbehandelten Flechte auch den nach Kochen mit verdünnter Natronlauge hinterbleibenden Rückstand, von uns im folgenden als "Gerüstsubstanz" bezeichnet (siehe Exp. T. Abschn. II).

III. Herstellung der Hydrolysate

Die Hydrolyse sollte vollständig verlaufen, die Spaltprodukte aber so wenig wie möglich zerstören. Bei der bekannten Empfindlichkeit mancher zu erwartender Monosaccharide, wie Pentosen, Uronsäuren etc., mußte die Hydrolyse bei Raumtemperatur von vorneherein bevorzugt erscheinen. Von den beiden Möglichkeiten hierzu (Verwendung konzentrierter Schwefelsäure oder Salzsäure) wählten wir zunächst den von R. Willstätter und L. Zechmeister (10) eingeführten Aufschluss mit überkonzentrierter Salzsäure.

Vorversuche am Beispiel der Gerüstsubstanz der Cladonia mitis, bei denen der cuprometrisch nach Lehmann-Maquenne-Schoorl (11) bestimmte Reduktionswert als Maß für den Grad der Hydrolyse diente, ergaben als günstigste und daher zunächst angewandte Bedingungen:

24-stündige Einwirkung überkonz. HCl (D 1,248) bei 20° C und 1/2-stündige Nachhydrolyse auf dem Wasserbad in 0,5- 1 n salzsaurer Lösung.

Aus praktischen Gründen gingen wir später zur Verwendung von Schwefelsäure über, da sich gezeigt hatte, daß sich hierbei mit erheblich geringerem Arbeitsaufwand dieselben Resultate erzielen ließen (Versuche von H. Dörfel (12) und H.J. Nebel (13)). Dabei wurde ganz analog verfahren:

24-stündige Behandlung mit 75-prozentiger Schwefelsäure (Dichte 1,669), 20° C, Erhitzen der (verdünnten) 0,5 - 1 n schwefelsauren Lösung 4 - 6 Std. bei 100° C.

Der außerordentlichen Beständigkeit des Chitins gegenüber hydrolysierenden Agentien wegen war es notwendig, zur Bestimmung des Glukosamins gesonderte Hydrolysate unter entsprechend kräftigeren Bedingungen - 4-stündiges Kochen mit 7 n Salzsäure - herzustellen (Versuche von H.J. Nebel (14)).

Wollte man das so erhaltene saure Hydrolysat direkt auf das Papier auftragen, dann ergäben sich, besonders bei Trocknung mit heißer Luft ("Fön"), ganz beträchtliche Fehler. Einmal würde durch Abbau des Papierzellstoffs zusätzliche Glukose in Freiheit gesetzt und zum anderen bliebe ein Teil der Monosaccharide infolge Reversion (Zusammentreten der Zucker zu Oligosacchariden unter Wasserabspaltung (15)) am Startfleck zurück. Die unumgängliche Entfernung der Säure ist bei Salzsäure teilweise durch Eindampfen im Vakuum möglich. Der Rest wurde von uns sowohl mittels eines Anjonenaustauschers als auch einfacher mit Hilfe von Silberkarbonat gebunden. Bei Schwefelsäure verwendeten wir Kalziumkarbonat. Eine Neutralisierung, die zu löslichen Salzen führt, ist unbrauchbar, da größere Jonenkonzentrationen saubere Trennungen verhindern. Mit den so säurefrei gemachten Hydrolysaten erhielten wir stets einwandfreie Chromatogramme.

IV. Analyse der Hydrolysate

Die im Gemisch vorliegenden Monosaccharide wurden eindimensional absteigend mit Pyridin-Essigester-Wasser bzw. mit anderen im Experiment. Teil näher angegebenen Entwicklerflüssigkeiten getrennt und durch Umsetzen mit Triphenyltetrazoliumbase sichtbar gemacht. Zur Identifizierung und quantitativen Bestimmung dienten gleichzeitig aufgetragene Vergleichszucker. Die qualitative Prüfung erstreckte sich auf Glukose, Mannose, Galaktose, Fruktose, Xylose, Arabinose, Ribose, Rhamnose, Fukose, Glukosamin (in einigen Fällen auch auf Galaktosamin) und Uronsäuren. Für die quantitative Bestimmung wurden die gebildeten Formazanflecke mit Methanol-Eisessig eluiert und in Lösung photometriert (9). Zur Bestimmung des Glukosamins benutzten wir zwar ursprünglich die Farbreaktion mit Ninhydrin (Versuche von H. Bohn, unveröffentlicht, und H.J. Nebel (14)), da sie vor der mit TTC den Vorzug geringerer Papier-

leerwerte besitzt, kamen aber wieder davon ab, weil die Gefahr der Störung durch Abbauprodukte von Proteinen gegeben ist (von den Aminosäuren selbst läßt es sich mit Phenol p_h 1 trennen). Näheres siehe Exp. Teil, Abschn. IV und V.

V. Ergebnisse

Die Kohlenhydrate der untersuchten Flechten erwiesen sich als der Hauptmenge nach aus wenigen Komponenten zusammengesetzt. An ihrem Bau sind in allen Fällen jeweils die drei Hexosen G l u k o s e , M a n n o s e und G a l a k t o s e , und zwar im wesentlichen nur diese, wenn auch in stark wechselnden Mengenverhältnissen, beteiligt. Den Hauptanteil stellen meist die Glukane dar (11,3 - 56,9 %), die aber in manchen Arten von Mannanen (2,2 - 34,8 %) und mitunter sogar von Galaktanen (2,1 - 21,6 %) übertroffen werden. Bemerkenswert ist der hohe Prozentsatz an Mannanen in Cladonia alpestris (34,8). Die Werte für Mannane und Galaktane, bei denen erstere im allgemeinen schwach überwiegen, liegen häufig sehr nahe beieinander. In einigen Fällen sind sie sogar genau gleich (Pertusaria corallina 2,4/2,4; Evernia prunastri 13,3/13,3; Alectoria ochroleuca 6,0/6,0; als Durchschnittswert der Gyrophoraceen 6,2/6,2). In den Tabellen 5 und 6 kann man ebenfalls beobachten, daß die Mannose- und Galaktosebildung Hand in Hand geht: mehr Glukose einerseits bedeutet stets sowohl weniger Mannose wie auch weniger Galaktose andererseits.

Um vergleichbare Zahlen zu bekommen, wurden die Analysenwerte (siehe S. 35) auf aschefreie Trockensubstanz bezogen (wenn nicht, wie in einigen Tabellen, ausdrücklich anders vermerkt !). Sie bezeichnen ausnahmslos den prozentualen Gehalt an Monosaccharid-Anhydrid.

An Pentosen bzw. Methylpentosen waren, außer in Caloplaca elegans (mit 2,4 % Rhamnose) und Cora pavonia (mit 2,9 % Xylose), in den Flechten nur Spuren von Xylose und Rhamnose nachzuweisen. Es ist möglich, daß auch solche Flechten, bei denen wir diese Verbindungen nicht finden konnten, Spuren davon enthalten; ihre Konzentrationen müssen jedoch nach unseren Erfahrungen unter 0,3 % liegen.

In Caloplaca elegans ist die Rhamnose nicht, wie anfänglich vermutet, glykosidisch an den orangeroten Farbstoff dieser Flechte, das Parietin, gebunden. Bei Extraktion mit Alkohol-Wasser (3 : 2 v/v) im Soxhlet geht zwar der Farbstoff in Lösung, Rhamnose ist jedoch (nach der Hydrolyse) nur im Rückstand, nicht im Extrakt vorhanden. Rhamnose tritt im Pflanzenreich, wie zahlreiche Untersuchungen gezeigt haben, sonst fast nur als Glykosid mit phenolischen Aglukonen auf.

Die in früheren Arbeiten gemachten Angaben über das Vorkommen von Pentosanen in Flechten stehen im Gegensatz zu unserem Befund. Sie bewegen sich durchwegs in der Grössenordnung von mehreren Prozent. So fanden beispielsweise Ulander und Tollens (4) in Peltigera aphthosa 3,0, in Cladonia rangiferina 1,7, in Cetraria islandica 2,4 (Lichenin) und 3,5 (Rückstand), in Evernia prunastri 3,0 (Everniin) und 3,8 (wasserunl. Rückstand) Proz. etc.. Dieser Widerspruch beruht sehr wahrscheinlich auf der Unzuverlässigkeit der von den Autoren verwendeten Bestimmungsmethode (Furfurol-Bildung und Fällung als Phloroglyzin-Verbindung (16)). Ist sie schon zur Bestimmung sehr kleiner Mengen Pentosane in dem fast ausschließlich hexosehaltigen Material wenig geeignet +) (17), so muß

+) Nach Klingstedt (17) entstehen auch aus reinen Hexosen unter den Bedingungen der Salzsäuredestillation in geringem Umfange Furfurol bzw. furfurolähnliche Stoffe, die mit Phlorogluzin unlösliche Niederschläge bilden und auf diese Weise einen Pentosangehalt von 1 - 2 Proz. vortäuschen können.

T a b e l l e 1

Übersicht der Zusammensetzung der untersuchten Flechten. Die Zahlen bedeuten den prozent. Gehalt an Monosaccharid-Anhydrid (+ bedeutet Spuren, d.h. weniger als 0,5 Proz.; - bedeutet unter 0,3 Proz.; +) hinter der Summe der Kohlenhydrate bedeutet, daß in der Summe auch der Gehalt an Uronsäuren mit einberechnet ist).

	Gluk.	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham.	Gluk.-amin	Summe
A. Coniocarpineae							
Sphaerophoraceae							
Sphaerophorus melanocarpus	20,2	18,3	15,2	-	-	0,1	60,4 +)
B. Cyclocarpineae							
Cladoniaceae							
Cladonia mitis	18,8	26,5	21,6	-	-	0,02	66,9
" alpestris	20,9	34,8	17,4	-	-	0,01	73,1
" rangiferina	26,0	22,3	14,0	-	-	0,2	62,5
" amaurocrea	23,4	19,7	14,8	-	-	0,2	58,1
" elongata	26,6	20,3	15,7	-	-	0,3	62,9
" pyxidata	23,1	20,4	15,6	-	-	0,3	59,4
" ceratophylla	21,5	26,4	16,6	-	-	0,2	66,0 +)
" degenerans	30,7	19,0	13,5	-	-	0,3	63,5
" furcata	39,7	14,2	16,2	-	-	0,2	70,3
Stereocaulon alpinum	56,9	12,4	9,4	+	-	0,7	79,4
Gyrophoraceae							
Umbilicaria deusta	37,4	5,7	6,2	-	-	0,8	50,1
" vellea	43,2	5,9	6,7	+	-	0,8	56,6
" crustulosa	47,9	5,5	6,5	-	-	0,5	60,4
" cylindrica	52,1	6,1	5,3	-	-	0,4	63,9
" pustulata	48,9	7,7	6,5	+	-	0,8	63,9
Stictaceae							
Lobaria scrobiculata	23,4	19,6	10,6	+	-	1,7	55,3
" pulmonaria	22,0	18,5	8,6	-	-	1,9	51,0
Sticta lenormandii	15,6	15,2	9,6	-	-	7,4	47,8
Peltigeraceae							
Peltigera canina	21,4	18,4	9,2	+	-	3,3	52,3
" aphthosa	12,8	17,1	11,1	-	-	2,6	43,6
" venosa	11,6	17,9	10,0	-	-	1,9	41,4
" malacea	11,3	17,8	11,0	+	-	3,1	43,2

	Gluk.	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham.	Gluk.-amin	Summe
Pertusariaceae							
Pertusaria corallina	43,9	2,4	2,4	+	-	0,2	48,9
Lecanoraceae							
Lecanora rubina	35,5	16,6	11,9	+	-	1,3	65,3
" frustulosa	11,9	17,3	13,4	+	+	1,9	44,5
Haematomma ventosum	53,2	2,2	6,3	+	+	0,8	62,5
Parmeliaceae							
Parmelia furfuracea	38,1	8,3	8,5	+	+	0,5	57,2+)
" caperata	34,1	9,5	8,4	+	-	0,8	52,8
" saxatilis	27,5	8,0	7,9	-	-	0,4	43,8
" physodes	27,4	7,6	9,0	-	-	0,2	49,0+)
" stenophylla	19,8	12,0	11,1	+	+	1,1	44,0
Cetraria islandica	26,1	16,8	11,2	+	-	0,2	57,1+)
" pinastri	33,0	12,3	11,8	+	+	0,4	57,5
Usneaceae							
Evernia prunastri	25,0	13,5	13,5	-	-	0,8	58,4+)
Letharia vulpina	36,5	8,0	10,8	-	-	0,6	59,3+)
Alectoria ochroleuca	52,7	6,0	6,0	+	-	0,3	65,0
Ramalina usnea	35,4	13,0	16,9	-	-	1,0	66,3
Usnea dasypoga	41,7	9,2	9,7	-	-	0,4	61,0
" laevis	28,3	8,0	11,4	-	-	0,4	53,9+)
Usnea-Art (abgestorben)	47,7	4,8	7,0	-	-	0,3	59,8
Caloplacaceae							
Caloplaca elegans	47,2	6,4	4,3	+	2,4	1,8	62,1
ferner:							
Lepraria chlorina	14,7	15,4	14,1	+	+	1,5	45,7
Cora pavonia	30,5	4,0	2,1	2,9	-	6,9	46,2

das Resultat erst recht zu hoch ausfallen, wenn gleichzeitig Polyuronsäuren (die ebenfalls Furfurol liefern) anwesend sind (18), wie es ja hier der Fall ist. Tatsächlich fanden auch Buston und Chambers (5) in den Hemizellulosen (die nach herkömmlicher Ansicht allgemein als pentosanreich gelten) von Cetraria islandica keinerlei Pentosen. Wohl aber erhielten sie bei Salzsäuredestillation eine dem Uronsäuregehalt (aus abgespaltenem CO_2 ermittelt) annähernd entsprechende Menge Furfurol.

Mit dem fast völligen Fehlen der Pentosen steht der geringe Gehalt an U r o n s ä u r e n in Einklang. Von 18 in dieser Hinsicht geprüften Flechtenarten zeigten nur 8 nachweisbare Mengen von G l u k u r o n - bzw. M a n n u r o n - und G a l a k t u r o n s ä u r e (Tabelle 2). Diese Körperklasse war in neuerer Zeit bereits von Buston und Chambers (5) sowie Granichstädten und Percival (6) als Hydrolyseprodukt der mittels Alkali aus Cetraria islandica isolierbaren Hemizellulosen erkannt worden. Je nach den angewandten Abtrennungs- bzw. Reinigungsoperationen bezifferten die Autoren den Anteil der erhaltenen Uronsäure auf ca. 5 - 10 Proz. der isolierten Fraktion (die ihrerseits nur etwa 3 - 4 Proz. der Flechtensubstanz ausmachte), wobei Unklarheiten hinsichtlich deren chemischer Natur bestanden. Während Buston und Chambers glaubten, Galakturonsäure vor sich zu haben, hielten Granichstädten und Percival sie für Glukuronsäure. Da Cetraria islandica alle drei Uronsäuren enthält, dürfte es sich dabei in Wirklichkeit um ein Gemisch der drei Stereoisomeren gehandelt haben.

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, sind besonders Usneaceen und Parmeliaceen durch den Gehalt an Uronsäuren ausgezeichnet. An ihrer Spitze steht Sphaerophorus melanocarpus mit 6,6 Proz. Gesamtmenge. Weiterhin zeigt sich, daß Glukuronsäure (0 - 2,9 Proz.) in den untersuchten Flechten regelmäßig mit Galakturonsäure (0 - 3,4 Proz.) vergesellschaftet ist, von denen letztere überwiegt. Dagegen tritt Mannuronsäure (0 - 1,0 Proz.) seltener und in geringeren Mengen auf.

Tabelle 2

Gehalt der Flechten an Uronsäure-Anhydrid in Proz. der aschefreien Trockensubstanz (- bedeutet unter 0,2 Proz.).

	Gluk-uron-säure	Mann-uron-säure	Galk.-uron-säure	Summe
Sphaerophorus melanocarpus	2,9	0,4	3,3	6,6
Cladonia alpestris	-	-	-	-
" elongata	-	-	-	-
" ceratophylla	0,2	0,8	0,3	1,3
" rangiferina	-	-	-	-
Umbilicaria deusta	-		-	-
" crustulosa	-	-	-	-
" cylindrica	-	-	-	
Sticta lenormandii	-	-		
Peltigera aphthosa	-	-		
Parmelia furfuracea	0,7	-	[illegible]	[illegible]
" physodes	1,7	-	[illegible]	4,0
Cetraria islandica	0,6	1,0	[illegible]	[illegible]
Evernia prunastri	1,6	1,0	4,0	6,6
Letharia vulpina	1,5	-	1,9	3,4
Usnea laevis	2,4	-	3,4	5,8
Ramalina usnea	-	-	-	-
Cora pavonia	-	-	-	-

An dieser Stelle sei auf die Problematik der Hydrolyse von Polyuroniden hingewiesen. Da vollständiger Abbau erst unter Bedingungen zu erreichen ist, die schon eine weitgehende Zerstörung der freigesetzten Uronsäuren im Gefolge haben, ist man gezwungen, den hydrolytischen Prozeß vorzeitig zu unterbrechen. In der Regel wird man daher auch bei Anwendung optimaler Aufschlußbedingungen mit ziemlichen Verlusten sowohl durch unvollkommene Hydrolyse als auch durch Zerstörung (bis zu 30 Proz.) rechnen müssen.

So konnten wir auf den Papierchromatogrammen neben Uronsäuren immer auch Diuronide beobachten, deren Reduktionswert (TTC) demjenigen von bis zu 2 Proz. Galakturonsäure entsprach. Die angeführten Zahlen sind aus den erwähnten Gründen daher als untere Grenzwerte zu verstehen (vgl. S. 21).

Über das Vorkommen von C h i t i n in den Flechten, seit Winterstein (19) als Bestandteil höherer Pilze (Basidiomyceten) bekannt, findet man in der Literatur keine eindeutigen Angaben. Während v. Wisselingh (20) das Vorhandensein (wenn auch zumeist in sehr geringen Mengen) bejaht, läßt F. Escombe (21) diese Frage offen. Er untersuchte Cetraria islandica, Peltigera canina und Evernia prunastri und erhielt nur aus Peltigera canina nach Behandlung mit Alkali eine chitosanähnliche Substanz, die aber nur 1/5 der theoretischen N-Menge enthielt. K. Müller (3) schließt sich auf Grund seiner Versuche der Auffassung v. Wisselinghs an. Er führte in den untersuchten Flechten (siehe S. 1) den Chitin-Nachweis ebenfalls nur durch die Wisselingh'sche Chitosan-Farbenreaktion (22), nie jedoch durch Hydrolyse und Identifizierung der Spaltstücke. Wir fanden nun tatsächlich als Abbauprodukt sämtlicher zur Verfügung stehender Flechten Glukosamin, zum Teil in beträchtlichem Umfange (Sticta lenormandii 7,4 Proz.), zum Teil nur äußerst wenig (Cladonia mitis u.C. alpestris mit 0,01 bzw. 0,02 Proz.), meist um oder unter 1 Prozent. In den Gerüstsubstanzen ist der Anteil, wie zu erwarten, erhöht. Sicherheitshalber überzeugten wir uns in einigen Beispielen davon, daß Glukosamin und nicht etwa Galaktosamin vorlag (Umbilicaria deusta, Peltigera venosa, P. aphthosa, Parmelia physodes, P. saxatilis, Cora pavonia und Sticta lenormandii), da bei den normalerweise zur chromatographischen Abtrennung der Hexosamine verwendeten kurzen Wanderungsstrecken (ergeben enger begrenzte Flecke mit kleineren Papierleerwerten und daher größerer Genauigkeit) die Trennung von Glukosamin und Galaktosamin nicht vollständig ist und mitunter zu Verwechslungen Anlaß geben könnte (siehe Exp. Teil, Abschn. IV).

Wenn auch das Vorhandensein von Glukosamin nur notwendige Vorbedingung und nicht hinreichender Beweis für die Existenz des Chitins ist, läßt doch die Alkaliresistenz der glukosaminhaltigen Polysaccharide (vgl. Tab. 3 und 4) diese mit Sicherheit vermuten, besonders in Hinblick auf die Arbeiten v. Wisselingh's. Ob darüberhinaus Glukosamin auch in anderer Form, etwa mit sonstigen Monosacchariden zusammen, am Aufbau der Kohlenhydrate teilnimmt, bleibt ungewiß.

In diesem Zusammenhang verdient die Fähigkeit der Flechten, ihren Stickstoffbedarf zu decken, Beachtung. Denn nicht nur Peltigeraceen, Stictaceen usw., die auf dem Boden wachsen und denen somit genügend zerfallendes organisches Material zur Verfugung steht, sondern auch die auf blankem Fels gedeihenden Krustenflechten, wie Caloplaca, Lecanoraceen u.a. verwenden einen nicht unerheblichen Teil ihres Stickstoffvorrats auf die Synthese des Glukosamins.

Über die Zusammensetzung der G e r ü s t s u b s t a n z e n (siehe Exp. Teil, Abschn. II) orientiert Tabelle 3. Zu Vergleichszwecken ist die Zusammensetzung der unvorbehandelten Flechten mitangeführt.

Welche Kohlenhydrate beim Kochen mit Lauge vorwiegend in Lösung gehen bzw. zurückbleiben, kann man aus Tabelle 4 ersehen. Die in ihr angegebenen Zahlen errechnen sich aus dem Mengenverhältnis von Gesamtflechte zu Gerüstsubstanz und aus deren unterschiedlicher Zusammensetzung. Sie bezeichnen den prozentualen Anteil der betreffenden Komponente, der nach der Alkalibehandlung noch vorhanden ist. So liegen beispielsweise in der Gerüstsubstanz von Cladonia mitis noch 84 Proz. der ursprünglich in der Flechte enthaltenen Mannane vor, während die Differenz zu 100, also 16 Proz., gelöst wurden.

Tabelle 3

Gehalt der Flechten-Gerüstsubstanzen an Monose-Anhydrid in Proz., bezogen auf aschefreie Substanz (Sp = Spuren, d.h. weniger als 0,5 Proz., - bedeutet unter 0,2 Proz.)

	Glukose	Mannose	Galaktose	Xylose	Rhamnose	Glukosamin	Summe
Cladonia mitis							
Gesamtsubstanz	18,8	26,5	21,6	-	-	0,02	66,9
Gerüstsubstanz	20,1	36,5	26,8	-	-	0,03	83,4
Cladonia alpestris							
Gesamtsubstanz	20,9	34,8	17,4	-	-	0,01	73,1
Gerüstsubstanz	19,8	45,0	18,2	-	-	0,02	83,0
Lobaria pulmonaria							
Gesamtsubstanz	22,0	18,5	8,6	-	-	1,9	51,0
Gerüstsubstanz	40,0	30,1	9,4	-	-	4,8	84,3
Parmelia furfuracea							
Gesamtsubstanz	38,1	8,3	8,5	Sp	Sp	0,5	55,4
Gerüstsubstanz	54,0	10.4	12,3	-	-	1,7	78.4
Evernia prunastri							
Gesamtsubstanz	25,0	13,5	13,5	-	-	0,8	52,8
Gerüstsubstanz	41,9	18,4	15,3	-	-	1,2	76,8
Letharia vulpina							
Gesamtsubstanz	36,5	8,0	10,8	-	-	0,6	55.9
Gerüstsubstanz	53,7	10,5	16,4	Sp	-	2,4	83,0
Caloplaca elegans							
Gesamtsubstanz	47,2	6,4	4,3	Sp	2,4	1,8	62,1
Gerüstsubstanz	76,9	2,8	3,2	-	-	4,2	87,1

Am auffälligsten ist in den Gerüstsubstanzen der Glukosaminanteil erhöht (bei Letharia vulpina um das vierfache). Dieser Aminozucker muß demnach in einer Verbindung vorliegen, die gegen Lauge besonders widerstandsfähig ist (Chitin ! vergl. S.13). Von den übrigen Hexosen ist in einigen Fällen Glukose (Caloplaca u.a.), in anderen wiederum Mannose und Galaktose relativ stärker angereichert (Cladonien). Man kann also nicht sagen, daß in den Zellmembranen immer nur dasselbe Monosaccharid, etwa Glukose, vorwiegt. Der höhere Gesamtkohlenhydratgehalt beruht darauf, daß Eiweißstoffe, Flechtensäuren usw. fast vollständig entfernt wurden.

T a b e l l e 4

Mengenverhältnis Gesamtflechte : Gerüstsubstanz (Spalte 1) und prozentuale Anteile der in den Gerüstsubstanzen zurückgebliebenen Kohlenhydrate, bezogen auf die in den Gesamtflechten enthaltenen Mengen (siehe Tab. 3).

	g Ger.-subst. in 100 g Ges.-flechte	Gluk.	Mann.	Gal.	Gluk.-amin.
Cladonia mitis	61	65	84	76	92
Cladonia alpestris	60	57	78	62	100
Lobaria pulmonaria	28	51	46	31	71
Parmelia furfuracea	19	27	24	27	65
Evernia prunastri	21	35	29	24	32
Letharia vulpina	9	13	12	14	36
Caloplaca elegans	33	54	14	25	77

Schließlich schien es uns wichtig, festzustellen, innerhalb welcher Grenzen die Kohlenhydratzusammensetzung infolge unterschiedlicher klimatischer und geographischer Bedingungen selbst bei ein und derselben Species variiere kann. Zu diesem Zwecke untersuchten wir je zwei Exemplare von Lobaria pulmonaria (I, II) und Parmelia furfuracea (III, IV) verschiedener Herkunft. Probe I und III stammten aus dem Oberengadin (1954), II vom Plansee in Tirol (1954) und IV aus der Umgebung Münchens (1953). Ungeachtet teilweise erheblicher Glukoseunterschiede zeigt sich doch im wesentlichen das gleiche Bild (Tab. 5).

Tabelle 5

Gehalt an Monosaccharid-Anhydrid in Proz. der aschefreien Trockensubstanz (I und II bzw. III und IV sind jeweils gleiche, aber an verschiedenen Standorten gewachsene Exemplare).

		Glukose	Mannose	Galaktose	Summe
Lobaria pulmonaria					
Gesamtflechte	I	26,4	18,3	7,6	52,3
	II	22,0	18,5	8,6	49,1
Gerüstsubstanz	I	42,3	28,2	8,3	78,8
	II	40,0	30,1	9,4	79,5
Parmelia furfuracea					
Gesamtflechte	III	33,2	10,6	10,9	54,7
	IV	38,1	8,3	8,5	54,9
Gerüstsubstanz	III	46,6	12,0	15,0	73,6
	IV	54,0	10,4	12,3	76,7

T a b e l l e 6

Gehalt der Cladonia alpestris an Monosaccharid-Anhydrid in verschiedenen Thallusabschnitten, in Proz. der Einwage, berechnet auf aschefreie Trokkensubstanz.

	Glukose	Mannose	Galaktose	Summe	Protein
"Spitzen"	24,6	33,0	17,1	74,7	4,6
"Stiele"	19,8	40,0	19,5	79,3	2,1

Gewisse Abweichungen wurden bei Cladonia alpestris festgestellt, wenn man einerseits die dünnen äußeren Spitzen und andererseits die dickeren stielartigen Teile untersuchte (Tabelle 6). Es ist wohl anzunehmen, daß diese Abweichungen durch ein relativ stärkeres Wachstum in den peripheren Thallusabschnitten bedingt werden. Damit erklärt sich einmal der geringere Gesamtkohlenhydratanteil in den Spitzen durch einen größeren Proteingehalt des wachsenden Gewebes und weiterhin der geringere Prozentsatz an Mannose und Galaktose durch eine noch nicht so weit fortgeschrittene Umwandlung der Glukose in ihre optischen Isomeren. Vielleicht sind auch die in Tabelle 5 zu beobachtenden Differenzen (mehr Glukose verbunden mit weniger Mannose und Galaktose) in diesem Sinne zu verstehen.

Im Zusammenhang mit der Frage der Altersunterschiede sei der Fall einer abgestorbenen Usnee angeführt. Es handelt sich um eine verwitterte und nicht mehr identifizierbare Art, die häufig in Form dichter, schwarzer Büschel, zugleich mit Usnea dasypoga, auf Lärchen in höheren Lagen angetroffen wird. Nach dem Absterben verliert diese Flechte infolge von Zersetzungserscheinungen die äußere Gewebsschicht und es bleibt mit der Zeit nur eine Art Mark übrig. Interessant ist dabei, daß die Zusammensetzung dieser Marksubstanz nicht allzu stark von der anderer Usneaceen (Usnea dasypoga) abweicht.

Zweifellos spielen ferner auch die jeweiligen Ernährungsbedingungen eine gewisse Rolle. Es ist sicher nicht unwichtig, ob eine Flechte z.B. auf dem Humus des Waldbodens wächst, auf Baumrinde oder auf nacktem Gestein. Eine Aussage über den Einfluß des Substrates (siehe Exp. Teil, Abschn. V) auf die Zusammensetzung der Flechten kann jedoch bisher nicht gemacht werden.

VI. Diskussion der Ergebnisse

Bevor auf die Besprechung der im vorhergehenden Kapitel mitgeteilten Ergebnisse näher eingegangen werden soll, seien einige Bemerkungen zur Beurteilung der Genauigkeit der Analysenwerte vorausgeschickt.

Von der Trockensubstanz der Flechten entfallen durchschnittlich etwa 55 Proz. auf Kohlenhydrate, 5 - 10 Proz. auf Proteine (siehe Tab. 7) und 5 - 15 Proz. auf Flechtensäuren. Zieht man die Bilanz, so bleibt, auch unter Berücksichtigung von ca. 10 Proz. sonstiger Bestandteile, wie Farbstoffe, Lipoide, Asche und dergl., eine Differenz von annähernd 15 - 20 Prozent. Dasselbe gilt für die Gerüstsubstanzen, bei denen maximal 84 Proz. der Einwage in Form von Kohlenhydraten wiedergefunden wurden, obwohl die oben genannten Begleitstoffe bereits weitestgehend entfernt worden waren. Da bisher keine sicheren Anzeichen für das Vorhandensein weiterer kohlenhydratfremder und laugeunlöslicher Anteile bekannt sind und da ferner mit Sicherheit gesagt werden kann, daß die im Hydrolysat enthaltenen Monosaccharide innerhalb der Fehlergrenze von 2 - 3 Proz. analytisch erfaßt werden, bleibt nur die Annahme, daß es sich hierbei im wesentlichen um Zerstörungsverluste während der Hydrolyse handelt. Tatsächlich sprechen auch eine Reihe von Beobachtungen dafür: Absinken des Reduktionswertes im Verlauf des Aufschlusses nach Überschreiten eines Maximums, Verfärbung und Humifizierung der Hydrolysate usw.. Quantitative Kontrollver-

Tabelle 7

Proteingehalt einiger Flechten (berechnet aus dem N-Gehalt, unter Abzug des auf Glukosamin entfallenden Anteils).

	$N_{Ges.}$	Gluk. amin	$N_{Gluk. amin}$	$N_{Prot.}$	Protein	Summe der Kohl. hydr.	Ges.-summe
Cladonia mitis	0,43	0,02	0,002	0,43	2,7	65,6	68,3
Stereocaulon alpinum	1,02	0,63	0,05	0,97	6,1	77,3	83,4
Lobaria pulmonaria	2,02	1,90	0,15	1,87	11,7	49,9	61,6
Parmelia stenophylla	1,78	0,99	0,08	1,70	10,6	38,5	49,1
Letharia vulpina	1,52	0,54	0,04	1,48	9,3	53,6	62,9
Evernia prunastri	1,95	0,76	0,06	1,89	11,8	50,8	62,6
Cladonia alpestris							
"Stiele"	0,33	0,01	0,001	0,33	2,1	78,5	80,6
"Spitzen"	0,74	0,01	0,001	0,74	4,6	74,0	78,6
Cetraria islandica	1,08	0,22	0,02	1,06	6,6	52,4	59,0
Cladonia rangiferina	0,47	0,18	0,01	0,46	2,9	62,0	64,9
Cetraria islandica	0,52	0,22	0,02	0,50	3,1	52,4	55,5
Lobaria pulmonaria	2,25	1,90	0,15	2,10	13,1	49,9	63,0
Parmelia furfuracea	0,90	0,46	0,04	0,86	5,4	52,6	58,0
Evernia prunastri	0,50	0,76	0,06	0,44	2,8	50,8	53,6

Die N-Werte in Gruppe I wurden von Schoeller, Kronach/Ofr. bestimmt (nach Dumas), die restlichen sind der Literatur entnommen: Gruppe II Ulander und Tollens (4) (nach Kjeldahl), Gruppe III: Hilpert, Becker und Rossée (17) (nach Kjeldahl).

suche zeigten aber, daß die Zerstörung reiner Zucker unter den genannten Bedingungen (siehe S. 5) nur ca. 5 Proz. ausmacht. Pentosen und Uronsäuren zeigen zwar höhere Verluste (15 resp. 30 Proz.), fallen aber hier nicht ins Gewicht. Auch die Analyse reiner entfetteter Zellwolle ergab ca. 95 Proz. Glukan (13). Die bei reinen Zuckern bzw. gereinigter Zellulose auftretenden Verluste liegen demnach beträcht-

lich unter dem festgestellten Fehlbetrag. Allerdings scheinen Flechtenpolysaccharide besonders empfindlich gegen starke Säuren zu sein, denn nach Hilpert, Becker und Rossée (23) erleiden sie selbst bei -12° C durch diese Veränderungen im Sinne einer Zerstörung, während die Säurewirkung auf reine Zucker bei dieser Temperatur praktisch verschwunden ist. Weiterhin ist auch eine stärkere Zerstörung der Kohlenhydrate in Gegenwart von Fremdstoffen (Eiweiß!) denkbar, ebenso wie die Hydrolyseverluste von Proteinen bei Anwesenheit von Sacchariden größer sind als ohne diese. In einigen Fällen trennten wir den nach der Hydrolyse zurückbleibenden Rückstand ab und fanden bei Cladonia alpestris 8,5 , C. rangiferina 9,5 , Sticta lenormandii 23,1 , Parmelia furfuracea 21,4 , Cetraria islandica 11,6 , Evernia prunastri 17,8 und Letharia vulpina 15,3 (Gesamtflechte) bzw. 7,3 (Gerüstsubstanz) Proz. der Einwage. Ebenso erhielten auch Granichstädten und Percival selbst aus einer gereinigten Hemizellulosefraktion (allerdings unter anderen Hydrolysebedingungen: 3,7-proz. H_2SO_4, 3,5 Std., 100° C) 16 Proz. unlöslichen Rückstand (vgl. auch G. Klein, Hdbch. Pflanzanalyse III/1, 2. Hälfte S. 169).

Nach dem Gesagten ist also anzunehmen, daß die wirklichen Monosaccharidwerte (um 5 - 10 Proz.) höher liegen als die hier mitgeteilten. Das ist für vergleichende Betrachtungen jedoch ohne Belang, weil es dabei viel mehr auf die Mengenverhältnisse der Komponenten als auf genaue absolute Werte ankommt. Diese sind, wie überall auf dem Gebiet der Naturstoffe, ohnehin einer gewissen Schwankungsbreite unterworfen (vgl. Tab. 5 und 6).

Wie man aus Tabelle 8 ersehen kann, ist demgegenüber die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse durchaus zufriedenstellend. Dort sind die Resultate zweier unabhängig voneinander durchgeführter Analysen der Cladonia mitis zusammengestellt.

Tabelle 8

Vergleich der aus zwei Analysen (I und II) der Cladonia mitis erhaltenen Werte (Prozentzahlen des Gehaltes an Hexose-Anhydrid, bezogen auf aschehaltige Trockensubstanz).

	Glukose	Mannose	Galaktose	Summe
Gesamtflechte I	18,4	26,0	21,2	65,6
II	17,0	25,3	20,4	62,7
Gerüstsubstanz I	19,7	35,7	26,3	81,7
II	19,4	34,5	25,7	79,6

a) Vergleich der Flechten untereinander.

Trotz der starken Streuung der Zahlenwerte lassen sich bei genauerem Studium der Tabelle 1 doch gewisse Regelmäßigkeiten erkennen. Setzt man die zu erwartende Variationsbreite in Rechnung, so erkennt man innerhalb der einzelnen Gattungen eine deutliche Übereinstimmung in der Zusammensetzung. Besonders ausgeprägt tritt dies bei den Umbilicarien in Erscheinung: Glukose variiert zwar von 37,4 - 52,1 Proz., Mannose jedoch nur von 5,5 - 7,7 und Galaktose von 5,3 - 6,7. Wenn man bedenkt, daß die Mannose insgesamt, d.h. über alle Flechten hinweg, zwischen 2,2 und 34,8 Proz. schwankt, so ist die Konstanz im Mannosegehalt der 5 Umbilicarien erstaunlich gut. Ähnliches gilt für die Galaktose: Gesamtschwankung 2,1 - 21,6 (d.h. 1:10), bei den Umbilicarien aber nur 5,3 - 6,7. Ausgezeichnet ist auch die Übereinstimmung bei den Peltigeraceen (bis auf den zu hohen Glukosewert von P. canina). Die Streuungen auf Grund der individuellen Schwankungsbreite, wie sie aus Tabelle 5 hervorgehen, halten sich in den Grenzen der Abweichungen innerhalb der einzelnen Gattungen.

Die Abstufung verschiedener Gruppen hinsichtlich einer Zuckerkomponente erscheint oft etwas verwischt. Durch Kombination der vier Werte aber (Glukose, Mannose, Galaktose und Glukosamin) entsteht ein typisches Bild der Zusammensetzung, insbesondere für diejenigen Gattungen, von denen mehr Arten zur Verfügung standen. So sind die Cladonien, um nur ein Beispiel zu nennen, durch relativ viel Mannose (um 20 Proz.) und Galaktose (um 15 Proz.) und minimale Mengen Glukosamin (0,3 Proz. und darunter) charakterisiert. Die Peltigeraceen dagegen besitzen bei ähnlich hohem Mannoseanteil (18 Proz.) weniger Galaktose (etwa 10 Proz.) und weniger Glukose (um 12 Proz., Cladonien 20 - 30 Proz.), umgekehrt aber viel mehr Glukosamin (2 - 3 Proz.).

Auch Gattungen der gleichen Familie unterscheiden sich meist beträchtlich voneinander, z.B. Stereocaulon von Cladonia, Sticta von Lobaria usw.. Dementsprechend ist bei den Usneaceen die Übereinstimmung am schlechtesten, da von sieben untersuchten Vertretern fünf verschiedenen Gattungen angehören.

b) Vergleich mit anderen Pflanzen.

In mehrfacher Hinsicht unterscheiden sich Flechten von den übrigen Pflanzengruppen. Auffallend ist zunächst das fast völlige Fehlen von Pentosen (mit zwei Ausnahmen nur unter 0,5 Proz.), besonders der sonst oft in erheblicher Menge vorkommenden Xylose. Dagegen wurde die als Kohlenhydratkomponente zahlreicher Farbstoffglykoside bekannte Rhamnose, wenn auch nur in Spuren (Ausnahme Caloplaca elegans), erstmals in den Hemizellulosen mehrerer Flechten aufgefunden.

Die nahe Verwandtschaft der höheren Pilze mit den Flechten drückt sich u.a. darin aus, daß bei beiden am Bau der Zellmembranen Chitin beteiligt ist, bei letzteren jedoch in weit geringerem Masse, zugunsten der stickstoff-

freien Hexosane, wie aus nachfolgender Übersicht hervorgeht.

Tabelle 9

Vergleich der Zusammensetzung von Flechten und höheren Pilzen (Fruchtkörper von Basidiomyceten) in Proz. der Trockensubstanz.

	Glukane	Mannane	Galaktane	Chitin	Summe
Flechten	11-57	2-35	2-21	ca.0-4	50-60
Pilze +)	5-45	1- 5	0- 2	3-7	30-40

c) Über den Bau der Kohlenhydrate.

Zweifelsohne enthalten Flechten ein äußerst kompliziertes Gemisch verschiedenster Polysaccharide. In dem Bestreben, chemisch einheitlich gebaute Stoffe in die Hand zu bekommen, hat man eine Reihe physikalischer und chemischer Methoden zu ihrer Abtrennung und Reinigung ausgearbeitet (Extraktion mit Wasser bzw. Alkali; fraktionierte Fällung mit Alkohol oder Azeton aus wässriger Lösung; Abscheidung als Kupferkomplex (24) usw.) und gelangte damit auch zu mehr oder weniger gut definierten Produkten

Besonders ausführlich untersucht sind, wie eingangs erwähnt, die wasserlöslichen Anteile. So besteht das aus Isländischem Moos (Cetraria islandica) mit heißem Wasser extrahierbare Lichenin aus Glukose-Einheiten, die hauptsächlich ß-1,4, zum geringeren Teil ß-1,3-verknüpft sind (25, 26). Isolichenin hingegen, das auch in kaltem Wasser gut löslich ist und daher in den Mutterlaugen des Lichenins verbleibt, enthält außer Glukose noch Mannose und Galaktose (27). Wie K.H. Meyer und P. Gürtler (28) gezeigt

---

+) Die Zusammensetzung der Pilze ist entnommen aus einer Arbeit von H.J. Nebel (13).

haben, läßt es sich seinerseits in verschiedene Fraktionen zerlegen. Das in heißem Wasser lösliche Pustulin aus Umbilicaria pustulata soll nach B. Drake (29) ebenfalls ein reines Glukan sein und die Monosaccharid-Einheiten in α-1, 6-Bindung enthalten. Aus Evernia prunastri und aus einer Bartflechte wurden wasserlösliche Saccharide extrahiert und nach ihrer Herkunft Everniin (30) bzw. Usnin (31) genannt, ohne daß sie jedoch bisher eine nähere Charakterisierung erfahren hätten.

Des weiteren berichteten H. Granichstädten und E.G.V. Percival (6) in neuerer Zeit von einer mit verdünntem Alkali aus lichenin-freiem Isländischen Moos (Cetraria islandica) isolierten Hemizellulose, die vorwiegend Glukose, daneben auch etwas Mannose und Galaktose enthält und welche sich wiederum in vier einzelne Bestandteile aufspalten läßt. Die Autoren stellen außer α-1, 3-, β-1,4 - und α-1,6-Bindung auch α-1,2-Verknüpfung der Glukose fest, einen bis dahin in der Literatur nicht beschriebenen Bindungstyp. In einer inzwischen veröffentlichten Arbeit über die alkali-löslichen Polysaccharide der Cladonia alpestris vertreten G. Aspinall, E.L. Hirst und M. Warburton (7) auf Grund ihrer Beobachtungen die Ansicht, daß in den wiederum glukose-, mannose- und galaktosehaltigen und in mehrere Komponenten fraktionierbaren Körpern hochverzweigte Ketten vorliegen, die den größten Teil der Galaktose endständig und nicht reduzierend gebunden enthalten. Außerdem gelang es nach Methylierung zwei Fraktionen abzutrennen, von denen die eine ausschließlich aus (nicht vollständig methylierten) Glukoseketten, die andere aus Mannoseketten aufgebaut sein soll.

Die Mehrzahl der bearbeiteten Polysaccharide war nicht einheitlicher Natur. Dies geht schon daraus hervor, daß ihre Zusammensetzung je nach den angewandten Abtrennungs- und Reinigungsoperationen in gewissen Grenzen schwankte.

Aus den in Tabelle 3 und 4 wiedergegebenen Ergebnissen der eigenen Versuche folgt, daß in jeder der untersuchten Flechten nicht nur wasser- und alkalilösliche Glukane, sondern auch Mannane und Galaktane enthalten sind. Es folgt weiter

daraus, daß sich auch die Gerüstsubstanzen in jedem Falle aus Glukanen, Galaktanen und Mannanen zusammensetzen.

Die Glukane der Pilzhyphen sind in keinem Falle mit Stärke bzw. Zellulose identisch; denn durch mikrochemische Farbreaktionen sowohl der ursprünglichen Flechten wie der Gerüstsubstanzen mit Zinkchlorid-Jod und Jod-Kaliumjodid ließen sich die Pilzhyphen nicht oder nur schwach rotbraun anfärben. Lediglich die Algenzellen, die sog. Gonidien, ergaben mit Zinkchlorid-Jod meist deutlich die blaue Zellulose-Reaktion (in Übereinstimmung mit den Beobachtungen früherer Autoren (21, 32)). Doch ist die Gewichtsmenge der Gonidien, wie schon erwähnt, im Vergleich zu jener der Gesamtflechte außerordentlich gering.

In diesem Zusammenhang erhebt sich die Frage, in welcher Weise die bestimmten Kohlenhydrate den Algen- bzw. Pilzkomponenten zuzuordnen sind. Wie oben erläutert, enthalten die sogenannten Gonidien (Algen) Zellulose. Sie tragen somit fraglos zur Gesamtmenge der Glukane bei. Dagegen erscheint es zweifelhaft, ob sie auch nennenswerte Mengen an Mannanen und Galaktanen enthalten. Diese dürften, ebenso wie der größte Teil der Glukane, von den Pilzen geliefert werden. Eine Entscheidung hierüber ließe sich jedoch erst treffen, wenn es gelänge, Pilzhyphen und Gonidien zu trennen und für sich zu untersuchen bzw. zumindest das Mengenverhältnis festzustellen, in dem beide in den Flechten vorliegen.

Naturgemäß sagen die bisherigen Versuche nichts darüber aus, ob in den Kohlenhydraten Gemische reiner Glukane, Galaktane und Mannane vorliegen oder ob am Aufbau der einzelnen Polysaccharide mehrere Hexosen beteiligt sind. Ebensowenig können bisher Aussagen gemacht werden über die Verknüpfungsstellen der Monosaccharid-Einheiten, außer in den obenerwähnten, schon näher untersuchten löslichen Flechten-Sacchariden. Man kann lediglich aus Analogie zu diesen vermuten, daß auch in den anderen Fällen nicht nur unverzweigte Ketten und nicht nur ß-1,4-Bindungen vorliegen.

VII. Zusammenfassung.

1. Es wurde die Zusammensetzung der Kohlenhydrate von 44 verschiedenen Flechtenarten, in 7 Fällen auch von der nach Kochen mit Lauge zurückbleibenden "Gerüstsubstanz", durch Hydrolyse und quantitative Analyse des resultierenden Monosaccharidgemisches auf papierchromatographischem Wege untersucht.

2. Als Hauptbausteine der Flechten-Polysaccharide treten stets die Hexosen Glukose (11 - 57 Proz.), Mannose (2 - 35 Proz.) und Galaktose (2 - 22 Proz.) auf, die in den einzelnen Arten in charakteristischen, sehr verschiedenen Mengen vorkommen.

Im Gegensatz zu den Behauptungen früherer Autoren wurden an Pentosen bzw. Methylpentosen, von zwei Ausnahmen abgesehen (Cora pavonia 2,9 Proz. Xylose und Caloplaca elegans 2,4 Proz. Rhamnose), nur Spuren (d.h. weniger als 0,5 Proz.) von Xylose und Rhamnose gefunden. Größtenteils fehlen sie ganz. Rhamnose wurde hierbei zum erstenmal als Spaltprodukt von Flechten-Polysacchariden identifiziert.

Als Hydrolyseprodukt von Chitin wurden ferner wechselnde Mengen Glukosamin nachgewiesen (0,01 - 7,4 Proz.) und damit die umstrittene Frage des Chitin-Vorkommens in den Flechten geklärt.

In geringerem Umfange sind bei einem Teil der Flechten auch die drei Uronsäuren Glukuronsäure (0 - 2,9 Proz.), Mannuronsäure (0 - 1,0 Proz.) und Galakturonsäure (0-3,4 Proz.) am Bau der Kohlenhydrate beteiligt. Die Summe aller Saccharide beläuft sich auf 41 - 79, im Durchschnitt auf etwa 55 Prozent.

3. Die Gerüstsubstanzen zeigen gegenüber den unvorbehandelten Flechten bei einem erhöhten Gesamtkohlenhydratgehalt (77 - 87, vorher 51 - 73 Proz.) eine Verschiebung in der Zusammensetzung der Komponenten. Stark erhöht (bis auf das vierfache) ist vor allem der Glukosaminanteil.

4. An zwei Beispielen wurde der Einfluß verschiedener Wachstumsbedingungen auf die Kohlenhydrat-Zusammensetzung von Individuen der gleichen Spezies (Lobaria pulmonaria und Parmelia furfuracea) untersucht, in einem weiteren Falle die Kohlenhydrat-Zusammensetzung in verschiedenen Thallusabschnitten ein und desselben Exemplares (Cladonia alpestris). Die hierbei festgestellten Abweichungen sind nicht sehr erheblich.

5. Ein Vergleich der Flechtenarten untereinander läßt bezüglich ihrer Zusammensetzung eine deutliche Übereinstimmung innerhalb der einzelnen Gattungen erkennen. Diese wiederum unterscheiden sich meist charakteristisch voneinander, auch wenn sie derselben Familie angehören.

Weiterhin wurden die Hauptmerkmale der Zusammensetzung der Flechten denen von Pilzen (Fruchtkörper von Basidiomyceten) gegenübergestellt (höherer Kohlenhydratgehalt, geringere Mengen Chitin).

6. Die Struktur der Flechten-Polysaccharide, insbesondere die einiger wasser- bzw. alkalilöslicher Fraktionen, wird diskutiert.

7. An Hand der Analysenbilanz wird auf die Hydrolyseverluste der Kohlenhydrate (5-15 Proz.) hingewiesen und im Zusammenhang damit die Genauigkeit der Ergebnisse besprochen. Die mitgeteilten Zahlen sind danach als untere Grenzwerte zu betrachten.

8. Als Beitrag zur Methodik der papierchromatographischen Trennung von Saccharidgemischen wird die Zusammensetzung einiger Entwicklerflüssigkeiten angegeben, mit deren Hilfe jetzt auch diejenigen Zucker scharf voneinander zu trennen sind, bei denen dies bisher Schwierigkeiten verursachte (Fukose/Xylose, Fruktose/Mannose). Dadurch ist es möglich geworden, vor allem auch Fruktose neben den anderen Hexosen und Pentosen papierchromatographisch exakt zu bestimmen.

B) Experimenteller Teil

I. Herkunft der Flechten.

Cladonia mitis, Caloplaca elegans und Letharia vulpina waren im August 1953 im Oberengadin (in der Nähe von Silvaplana und Sils Maria in 1800 - 2000 m Höhe) gesammelt worden, Parmelia furfuracea (IV) und Evernia prunastri im Sommer 1953 in der Umgebung Münchens und Lobaria pulmonaria (II) im Juli 1954 am Plansee in Tirol. Cladonia alpestris war ein Handelspräparat unbekannter Herkunft. Ramalina usnea (Maracaibo-Ebene, Juni 1954), Usnea laevis (Küstenkordillere, 2000-2800 m), Sticta lenormandii, Sphaerophorus melanocarpus. Cora pavonia (alle drei: Las Carboneras - Wald, Merida) und Cladonia ceratophylla (Gyranthera - Wolkenwald, Rancho Grande, stammten aus Venezuela. Alle weiteren, hier nicht aufgezählten Flechten wurden im Sommer 1954 im Oberengadin (wie oben, in der Nähe von Silvaplana und Sils Maria, 1800-2000 m) gesammelt.

Für die Beschaffung der Flechten danke ich vor allem meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. F.G. Fischer, Würzburg, sowie den Herren Dr. J. Poelt, Botanische Staatssammlung München, Prof. Dr. V. Vareschi, Caracas, Venezuela und Apotheker A. Schröppel, Pfronten-Ried, Allgäu. Herrn Dr. Poelt bin ich außerdem für die genaue Bestimmung aller untersuchten Exemplare zu Dank verpflichtet.

II. Vorbereitung zur Hydrolyse.

Die Flechten wurden von Verunreinigungen, wie Baumrinde Lärchennadeln, Gesteinsstückchen usw., befreit und entweder direkt lufttrocken oder im Vakuum (0,2 mm Hg) bei 60° C über P_2O_5 gewichtskonstant getrocknet eingewogen. Im ersteren Falle wurde der Gehalt an Trockensubstanz aus der Feuchtigkeitsbestimmung an einer zweiten Probe desselben Materials ermittelt.

Zur Herstellung der Gerüstsubstanzen wurden 5-10 g der gründlich mit Wasser gespülten Flechte zunächst 1 Std. mit

etwa 250 ml 0,2 n Natronlauge in der Kälte und anschließend 3 - 4 mal je 1/2 Std. mit der gleichen Menge 0,33 n Natronlauge bei 100° C behandelt, bis die Lauge nahezu farblos blieb. Dann wurde mehrere Stunden mit dest. Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und zum Schluß zur Entfernung lipoidlöslicher Stoffe (z.B. der Karotinoide) und zur Trocknung mehrmals mit Azeton behandelt. In einigen Fällen (Evernia prunastri, Lobaria pulmonaria und Letharia vulpina) wurde nach dem Kochen mit Lauge noch eine Behandlung mit kalter 0,2 n Salzsäure vorgenommen, um eventuell vom pflanzlichen Gewebe zurückgehaltene Alkali- und Erdalkalireste zu entfernen. Es hinterblieb ein fast farbloses Material, das, besonders bei den Cladonien, noch die ursprüngliche Struktur zeigte und unter dem Mikroskop ein einheitliches Bild farblos-durchsichtiger, fest miteinander verfilzter Fasern bot.

Das zu analysierende Material wurde (aus Gründen der Probenahme) gut zerdrückt und durchgemischt. Pulvern erwies sich als unzweckmäßig, da infolge der schlechten Benetzbarkeit beim Übergießen mit der konzentrierten Säure sofort Klümpchenbildung eintrat. Die äußere gequollene, gallertartige Schicht verhinderte dabei den Zutritt der Säure zum trockenen Innern der Klümpchen so nachhaltig, daß selbst nach 24 Std. noch Teile des Flechtenmaterials unangegriffen zurückblieben.

III. Bereitung und Entsäuerung der Hydrolysate

a) Aufschluß mit überkonzentrierter Salzsäure.

Ungefähr 500 mg der im Hochvakuum bei 60° C über Phosphorpentoxyd gewichtskonstant getrockneten Substanz (unvorbehandelte Flechte bzw. daraus gewonnene Gerüstsubstanz) wurde in einem vorgekühlten Bombenrohr mit 10 ml überkonzentrierter Salzsäure versetzt, wobei darauf geachtet wurde, daß diese nicht mit dem oberen, ungekühlten Teil des Rohres in Berührung kam, da sie sonst schäumte und HCl verlor. Wir bedienten uns dazu einer Pipette mit schwach ausgezogener, nicht zu enger Öffnung, aus der die Flüssigkeit mit Hilfe eines oben aufgesetzten Gummiballes in einem glatten Strahl

in das senkrecht gehaltene Rohr ausgeblasen werden konnte. Die überkonzentrierte Salzsäure stellten wir uns durch etwa halbstündiges Einleiten trockenen HCl-Gases in konz. Salzsäure bei Kühlung mit Eis-Kochsalz-Mischung her. Ein Schwimmer zeigte das Erreichen der gewünschten Konzentration (Dichte 1,248, entsprech. 46,6 Gew.-Proz.) an. Nun wurde das Rohr verschlossen und die Substanz, wenn nötig, durch Schütteln in Lösung gebracht, was im allgemeinen nicht länger als 10 - 15 Min. dauerte. Nach 24-stündigem Stehen bei 20° C wurde das Rohr gekühlt und geöffnet. Die Lösung wurde im Wasserstrahlvakuum bei 35-40° C Wasserbadtemperatur auf ca. 5 ml eingedampft (nicht weiter, da sonst Gefahr der Reversion besteht!), mit ca. 50 ml H_2O, verdünnt, erneut auf 5 ml eingedampft und schließlich auf 50 ml aufgefüllt. Von diesem annähernd 0,5 n salzsauren Hydrolysat erhitzten wir 20 ml in einem zugeschmolzenen Glasrohr 1 Std. auf dem siedenden Wasserbad. Die Entfernung der restlichen Säure geschah

1. mittels eines Anjonenaustauschers. Bei Verwendung von 20 ml (Nassvolumen) Lewatit MI/150 in einer 10 mm-Säule und einer Durchlaufgeschwindigkeit von 1,5 ml pro Min. erhielten wir ein völlig neutrales Hydrolysat. Zum Nachspülen waren 150 - 200 ml Wasser ausreichend (Kontrolle mit Triphenyltetrazoliumsalz). Nun wurde wegen des großen Volumen nochmals im Vakuum eingedampft und auf 25 ml aufgefüllt.

2. mittels Silberkarbonat. Im Anschluß an die Nachhydrolyse wurde soviel Ag_2CO_3 zugefügt, bis die Reaktion eben noch schwach sauer (etwa p_h 5) war. Nach Zentrifugieren und Abdekantieren der überstehenden klaren Lösung war diese zur Analyse fertig.

b) Aufschluß mit 75-prozent. Schwefelsäure.

In einem Reagenzglas wurden ungefähr 200 mg der Flechtensubstanz mit 1 ml 75-proz. Schwefelsäure (Dichte 1,669) übergossen, durch wiederholtes leichtes Schütteln in Lösung gebracht und bei 20° C stehen lassen. 24 Stunden später wurde auf ein Volumen von 50 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung wurden 5 ml im zugeschmolzenen Glasrohr 6 Std. im siedenden

Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten mit $CaCO_3$ nahezu neutralisiert (ca. p_h 5) und vom $CaSO_4$ abzentrifugiert. Diese Lösung ist nicht nur zur Analyse der neutralen Zucker, sondern auch der Uronsäuren geeignet, denn die angewandten Hydrolysebedingungen entsprechen gleichzeitig den optimalen Bedingungen zum Aufschluß der Polyuronide (nach F.G. Fischer und H. Dörfel (12)). Für die quantitative Bestimmung ist dann allerdings nötig, die zum Teil vorliegenden Urone durch Salzbildung völlig in die Säure-Form umzuwandeln. Zu diesem Zweck wurde das Hydrolysat durch einige Tropfen n/10 NaOH soweit alkalisch gemacht, daß es, auch nach einigen Minuten, Phenolphthalein gerade schwach rötete. Zum Schluß wurde mit einem Tropfen Essigsäure neutralisiert.

c) Hydrolyse des Chitins (nach J. Nebel (14))

Wie erwähnt, mußten zur Bestimmung des Glukosamins gesonderte Hydrolysate hergestellt werden. Etwa 100 mg der zu untersuchenden Substanz wurden mit 1 ml konz. Salzsäure (38-proz.) versetzt und 24 Std. bei 20° C stehen lassen. Nach dieser Zeit wurde einige Min. auf ca. 50° C erwärmt, mit 0,8 ml Wasser verdünnt und 4 Std. im abgeschmolzenen Reagenzglas im sied. Wasserbad erhitzt. Danach füllten wir auf 25 ml auf und machten einen aliquoten Teil davon (meist 5 ml) in der oben beschriebenen Weise mit Ag_2CO_3 säurefrei.

Sämtliche Hydrolysate sind zur besseren Haltbarkeit, mit einem Tropfen Toluol versehen, im Kühlschrank aufbewahrt worden.

VI. Qualitativer Nachweis der Monosaccharide

Die Zucker wurden eindimensional absteigend auf Whatman-Papier Nr. 1 bei 20° C mit einer geeigneten Verteilungsflüssigkeit chromatographiert, auf dem Papier mit Triphenyltetrazoliumbase (in wasserdampfgesättigter Atmosphäre 15 Min. bei 70° C) zur Reaktion gebracht und durch mitgelaufene Vergleichszucker identifiziert (9).

Zur Trennung der Monosaccharide wurden in der Literatur zwar eine ganze Reihe von Lösungsmittelgemischen vorgeschlagen (8). Ihnen haftet jedoch fast ausnahmslos der Mangel an, daß sie nur die Chromatographie relativ weniger nebeneinander vorliegender Saccharide erlauben. Am besten hat sich noch das von Jermin und Isherwood (33) angegebene Gemisch aus Pyridin-Essigester-Wasser (11:40:8 v/v +)) bewährt, das die Abtrennung von Galaktose, Glukose, Ribose, Rhamnose sowie Mannose (in Abwesenheit von Fruktose und Arabinose) und Xylose (in Abwesenheit von Fukose) ermöglicht. Auch Arabinose läßt sich noch abtrennen, wenn man ein wasserärmeres Gemisch (etwa 11:40:6) verwendet. Gewisse Schwierigkeiten ergeben sich nun insofern, als Mannose und Fruktose nach wie vor zusammenfallen. Letztere kann zwar mittels der üblichen Farbreaktionen auf einem eigenen Chromatogramm nachgewiesen, nicht aber quantitativ erfaßt werden. Zur Bestimmung der Fruktose ist man daher auf massanalytische oder kolorimetrische Methoden (34) angewiesen. Ist der Fruktosewert einmal bekannt, so kann man aus der chromatographisch festgestellten Summe beider Saccharide auf den Mannosegehalt zurückschließen. Dieses Verfahren ist umständlich und dürfte nur angenäherte Werte ergeben; es benötigt zudem größere Hydrolysatmengen

Aus den dargelegten Gründen waren wir daher bestrebt, eine zur chromatographischen Bestimmung von Fruktose neben Mannose geeignete Verteilungsflüssigkeit zu finden. Nach zahlreichen diesbezüglichen Versuchen erwies sich hierzu das Lösungsmittelgemisch aus Benzol, Pyridin, Essigester und Wasser im Verhältnis 100 : 100 : 150 : 15 (v/v) als brauchbar. Es ermöglicht einwandfreie Trennungen von Galaktose, Glukose, Mannose, Fruktose, Arabinose, Xylose (bei Abwesenheit der seltenen Fukose) und Rhamnose (bei Abwesenheit von Ribose) und somit nicht nur die Identifizierung, sondern auch quantitative Bestimmung fast aller in natürlichen Polysacchariden auftretender Zucker. Als Laufzeit sind etwa 40 Std zweckmäßig; für die schneller wandernden Pentosen Ribose (resp. Rhamnose reichen 15 Std. aus.

+) ursprünglich hergestellt aus Pyridin-Essigester-Wasser 100 : 250 : 350 v/v, org. Phase.

Zur Unterscheidung von Xylose und Fukose diente Collidin-Essigester-Wasser (15 : 20 : 4 v/v) oder, bei Abwesenheit von Ribose, n-Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 1 v/v, ca. 40 Std. Laufzeit).

Die Uronsäuren wurden getrennt mit dem von F.G. Fischer und H. Dörfel (27) angegebenen Lösungsmittelgemisch Pyridin-Essigester-Eisessig-Wasser (5 : 5 : 3 : 1 v/v, zur Dampfsättigung am Boden des Entwicklungskastens Pyridin-Essigester-Wasser 5 : 10 : 3 v/v, ca. 45 Std. Laufzeit) Mit derselben Trennflüssigkeit wurden die Hexosamine chromatographiert (gewöhnlich 3 - 4 Std., zur Unterscheidung von Glukosamin und Galaktosamin ca. 20 Std.)

V. Quantitative Bestimmung der Monosaccharide

Die quantitative Analyse geschah in der von F. G. Fischer und H. Dörfel (9) beschriebenen Weise. Mit Hilfe von Mikropipetten wurden mehrmals etwa 20 - 50 mm³ genau der zu untersuchenden Hydrolysate wie der Vergleichslösungen bekannter Zusammensetzung in je 18 mm Breite mit 2 - 3 mm Abstand nebeneinander auf das Papier aufgetragen. Die Orientierung über die ungefähre Zusammensetzung der in den Hydrolysaten enthaltenen Saccharide diente eine (vereinfachte) Voranalyse. Die Chromatogramme wurden wie unter IV entwickelt und mit Triphenyltetrazoliumbase angefärbt. Nach dem Ausschneiden der Flecke wurde dann das gebildete Formazan in Methanol-Eisessig (10 : 1 v/v) gelöst und dessen Extinktion mit dem Beckman-Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 482 m μ gemessen. Aus den Werten für Hydrolysat und Vergleichslösung (nach Abzug der Papierleerwerte) ergaben sich die gesuchten Analysenzahlen. Angegeben wurde stets der Gehalt an Monosaccharid-Anhydrid in Prozenten der Trockensubstanz. Pro Komponente und pro Flechte wurden jeweils 3 - 6 Bestimmungen ausgeführt, mit einer mittleren Streuung von 4 - 5 Proz. Größer waren die Streuungen nur bei der Bestimmung von Sacchariden, die in kleinen Konzentrationen vorlagen (z.B. Glukosamin, Uronsäuren etc.).

Von einigen Substanzen mit besonders extremer Zusammensetzung mußten mehrere Chromatogramme angefertigt werden, um zu erreichen, daß die Konzentrationen aller Komponenten jeweils einmal in einem für die Auswertung günstigen Bereich lagen.

Nachstehend folgen die gefundenen Analysenwerte. Sie sind, im Gegensatz zu den in den anderen Tabellen angeführten, nicht auf aschefreie, sondern auf aschehaltige Trockensubstanz bezogen. Der Aschegehalt wurde als Sulfat durch Verglühen im Tiegel und Abrauchen mit konz. Schwefelsäure bestimmt. Der auffallend hohe Glührückstand einiger Krustenflechten (wie Caloplaca) ist zum Teil auf eingewachsene Gesteinsreste zurückzuführen, deren mechanische Entfernung nicht möglich war. Hinter dem genauen botanischen Namen ist jeweils in Klammern das Substrat angegeben, auf dem die Flechte gewachsen ist, die äußere Gestalt (Strauchflechte, Blattflechte, Krustenflechte) und die Hydrolysenmethode (HCl oder H_2SO_4).

Gluk	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham.	Gluk. amin	Gluk-uron-säure	Mann-uron-säure	Gal.-uron-säure	Summe der Kohlhydr	Glüh-rück-stand
Sphaerophorus melanocarpus DC., (Strauchfl., Baumrinde, H_2SO_4)										
19,4	17,6	14,6	-	-	0,1	2,8	0,4	3,2	58,1	3,9
Cladonia mitis Sandst., (Strauchfl., Boden, HCl)										
18,4	26,0	21,0	-	-	0,02				65,6	1,8
Cladonia alpestris (L) Rabh., (Strauchfl., Boden, HCl)										
20,7	34,5	17,2	-	-	0,01	-	-	-	72,4	0.9
Cladonia rangiferina (L.), (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
25,8	22,1	13,9	-	-	0,2	-	-	-	59,3	1,1
Cladonia amaurocrea (Flk.) Schaer., (Strauchfl., Boden, HCl)										
23,4	19,7	14,8	-	-	0,2				58,1	0,1
Cladonia elongata Jaeg., (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
26,2	20,0	15,5	-	-	0,3	-	-	-	62,0	1,5
Cladonia furcata (Huds.) Schrad., (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
39,2	14,1	16,0	-	-	0,2				69,5	1,1

Gluk.	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham.	Gluk. amin	Gluk- uron- säure	Mann- uron- säure	Gal.- uron- säure	Summe der Kohl. hydr.	Glüh- rück- stand
Cladonia pyxidata (L) Fr., (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
22,6	20,o	15,3	-	-	0,2				58,2	2,2
Cladonia ceratophylla (Sw.) Spreng., (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
21,1	25,9	16,2	-	-	0,2	0,2	0,8	0,3	64,7	2,0
Cladonia degenerans (Flk.) Spreng. , (Strauchfl., Boden, H_2SO_4)										
29,8	18,4	13,1	-	-	0,2				61,5	3,0
Stereocaulon alpinum Lauv., (Strauchfl., stein. Boden, HCl)										
55,4	12,1	9,2	+	-	0,6				77,3	2,5
Umbilicaria deusta (L) Baumg., (Blattfl., Felsen, H_2SO_4)										
37,0	5,7	6,1	-	-	0,8	-	-	-	49,6	0,9
Umbilicaria vellea (L) Ach., (Blattfl., Felsen. HCl)										
42,1	5,7	6,5	+	-	0,7				55,0	2,5
Umbilicaria crustulosa (Ach.) Frey , (Blattfl., Felsen, H_2SO_4)										
46,2	5,3	6,3	-	-	0,5	-	-	-	58,3	3,5
Umbilicaria cylindrica (L) Del., (Blattfl., Felsen, H_2SO_4)										
50,5	5,9	5,1	-	-	0,4	-	-	-	61,9	3,1
Umbilicaria pustulata Hoffm., (Blattfl., Felsen, HCl)										
46,2	7,3	6,1	+	-	0,7				60,3	5,5
Lobaria scrobiculata (Scop.) DC, (Blattfl., Felsen, HCl)										
22,9	19,1	10,4	+	-	1,7				54,1	2,2
Lobaria pulmonaria (L) Hoffm., (Blattfl., Felsen, HCl)										
21,5	18,1	8,4	-	-	1,9				49,9	2,0
Sticta lenormandii (Nyl.) Zahlbr., (Blattfl., Baumrinde, H_2SO_4)										
15,2	14,8	9,3	-	-	7,2	-	-	-	46,5	2,6
Peltigera canina (L.) Willd., (Blattfl., Boden, HCl)										
20,9	18,0	9,0	+	-	3,2				51,1	2,4
Peltigera aphthosa (L) Willd., (Blattfl., Felsen, H_2SO_4)										
11,9	15,9	10,3	-	-	2,4	-	-	-	40,5	7,0
Peltigera venosa (L) Baumg., (Blattfl., Boden, H_2SO_4)										
10,9	16,9	9,4	-	-	1,8				39,0	5,7

Gluk.	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham.	Gluk. amin	Gluk-uron-säure	Mann-uron-säure	Gal.-uron-säure	Summe der Kohl. hydr.	Glüh rück stan
Peltigera malacea (Ach.) Duby, (Blattfl., Boden, HCl)										
11,1	17,5	10,8	+	-	3,1				42,5	1,8
Pertusaria corallina (L.) Arn., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
33,0	1,8	1,8	+	-	0,2				36,8	24,7
Lecanora rubina (Vill.) Ach., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
33,1	15,5	11,1	+	-	1,1				60,8	6,7
Lecanora frustulosa (Dicks.) Ach., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
8,3	12,1	9.4	+	+	1,4				31,2	30.3
Haematomma ventosum (L.) Mass., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
31,4	1,3	3,7	+	+	0,5				36,9	41,1
Parmelia furfuracea (L.) Ach., (Blattfl., Baumrinde, HCl)										
36,1	7,9	8,1	+	+	0,5	0,7	-	1,1	54,4	5,3
Parmelia caperata (L.) Ach., (Blattfl., Felsen, HCl)										
25,1	7,0	6,2	+	-	0,6				38,9	12,5
Parmelia saxatilis (L.) Ach., (Blattfl., Felsen mit Humus, H_2SO_4)										
26,1	7,6	7,5	-	-	0,3				41,5	5,0
Parmelia physodes (L.) Ach., (Blattfl., Baumrinde, H_2SO_4)										
27,0	7,5	8,9	-	-	0,2	1,7	-	3,1	48,4	1,4
Parmelia stenophylla (Ach.) DR., (Blattfl., Felsen mit Humus, HCl)										
17,3	10,5	9,7	+	+	1,0				38,5	12,5
Cetraria islandica (L.) Ach., (Strauchfl., Boden, HCl)										
25,3	16,3	10,8	+	-	0,2	0,6	1,0	1,2	55,4	3,1
Cetraria pinastri (Scop.) L. Gray, (Blattfl., Baumrinde, HCl)										
29,3	10,9	10,5	+	+	0,3				51,0	11,2
Evernia prunastri (L.) Ach., (Strauchfl., Baumrinde, HCl)										
24,0	13,0	13,0	-	-	0,8	1,5	1,0	2,8	56,1	3,6
Letharia vulpina (L.) Vain., (Strauchfl., Baumrinde, HCl)										
35,1	7,7	10,3	-	-	0,5	1,4	-	1,8	56,8	3,8
Alectoria ochroleuca (Ehrh.) Nyl., (Strauchfl., Felsen, HCl)										
51,3	5,8	5,8	+	-	0,3				63,2	2,6
Usnea dasypoga (Ach.) Hornem., (Strauchfl., Baumrinde, HCl)										
39,5	8,7	9,2	-	-	0,4				57,8	5,1

Gluk.	Mann.	Galk.	Xyl.	Rham	Gluk. amin	Gluk-uron-säure	Mann-uron-säure	Galk. uron-säure	Summe der Kohl. hydr.	Glüh-rück-stand
Usnea laevis Nyl., (Strauchfl., Felsen, H_2SO_4)										
27,2	7,7	11,0	-	-	0,3	2,3	-	3,3	51.8	3,8
Caloplaca elegans (Link) Th.Fr., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
41,2	5,6	3,8	+	2,1	1,6				54,3	12,7
Lepraria chlorina Ach., (Krustenfl., Felsen, HCl)										
9,4	9,8	9,0	+	+	0,9				29,1	36,2
Ramalina usnea (L.) Howe., (Strauchfl., Baumrinde, H_2SO_4)										
34,5	12,7	16,5	-	-	1,0	-	-	-	64,7	2,5
Cora pavonia Fries., (Blattfl., Boden, H_2SO_4)										
29,6	3,9	2,0	2,8	-	6,7	-	-	-	44,8	2.8
Usnea-Art, abgestorben, (Strauchfl., Baumrinde, H_2SO_4)										
47,3	4,8	6,9	-	-	0,3				59,3	0.7
Gerüstsubstanzen (ausschließlich mit HCl hydrolysiert)										
Cladonia mitis										
19,7	35,7	26,3	-	-	0,03				81,7	2.1
Cladonia alpestris										
19,4	44,1	17,9	-	-	0,02				81,4	1.9
Lobaria pulmonaria										
39,7	30,0	9,4	-	-	4,8				83.9	0,5
Parmelia furfuracea										
50,4	9,7	11,5	-	-	1,6				73.2	6,6
Evernia prunastri										
41,6	18,2	15,2	-	-	1,2				76,2	0.6
Letharia vulpina										
53,1	10,3	16,2	+	-	2,4				82,0	1,3
Caloplaca elegans										
60,0	2,2	2,5	-	-	3,3				68,0	22,0

Auch hier bedeuten alle Zahlen den prozentualen Gehalt an Monosaccharid-Anhydrid (+ bedeutet Spuren, weniger als 0,5 Proz.; - bedeutet weniger als 0,2 Proz.).

C. Literaturverzeichnis

(1) S. Schwendener, Verh. d. Schweizer Naturforsch. Ges. zu Rheinfelden, 51. Vers., 1867, 88.

(2) J.J. Berzelius, Schweigger's Journ. 7, 317-52 (1813)

(3) K. Müller, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 45, 266 (1905)

(4) A. Ulander u. B. Tollens, Ber. dtsch. chem. Ges. 39, 401 (1906)

(5) H.W. Buston u. V.H. Chambers, Biochem. J. 27, 1691 (1933)

(6) H. Granichstädten u. E.G.V. Percival, J. Chem. Soc. 1943 54-58

(7) G.O. Aspinal, E.L. Hirst u. M. Warburton, J. Chem. Soc. 1955, 651

(8) R.J. Block, E.L. Durrum, G. Zweig, A Manual of Paper Chromatography and Paper Elektrophoresis, Academic Press inc., New York 1955

F Cramer, Papierchromatographie, Verlag Chemie G.m.b H Weinheim 1954

(9) F.G. Fischer u. H. Dörfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem 297, 164 (1954)

(10) R. Willstätter u. L. Zechmeister, Ber. dtsch. chem. Ges. 46, 2401 (1913); 62, 722 (1929); 64, 854 (1931)

(11) G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse (1932) 1 (2) 786

(12) F. G. Fischer und H. Dörfel, Hoppe-Seyler's Z. physiol Chem. 301, 224 (1955)

(13) H.J. Nebel, Dissertation Würzburg 1955

(14) F.G. Fischer und H.J. Nebel, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 302, 10 (1955)

(15) A. Wohl, Ber. dtsch. chem. Ges. 23, 2084 (1890)
K. Müller u. K. Täufel, Naturwissensch. 40, 140 (1953)

(16) B. Tollens u. M. Krüger, Zeitschr. f. angew. Chem., 9, 40 (1896)

W. Mayer u. B. Tollens, Ber. dtsch. Chem. Ges., 40, 2441, (1907).

(17) F.W. Klingstedt, Zeitschr. f. anal. Chem., 66, 129 (1925)
Gierisch, Zellulosechemie, 6, 59, 81 (1925)

(18) B. Tollens u. K. Lefèvre, Ber. dtsch. Chem. Ges., 40, 4513 (1907)

(19) E. Winterstein, Ber. dtsch. Bot. Ges., 11, 441 (1893)

(20) v. Wisselingh, Jahrbuch f. wiss. Bot., Bd. 31, 667 (1898)

(21) F. Escombe, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 22, 288 (1896)

(22) G. Klein, Handbch. d. Pflanzenanalyse III. Bd., 1. Hälfte. Spezielle Analyse II, 72

(23) R.S. Hilpert, D. Becker und W. Rossée, Biochem. Z. 289, 179 (1937)

(24) E. Salkowski, Ber. dtsch. Chem. Ges., 27, 497 (1894)
I.L. Baker, T.H. Pope, J. Chem. Soc. 77, 696 (1900)

(25) K.H. Meyer u. P. Gürtler, Helv. chim. Acta 30, 751 (1947)

(26) R.A. Boissonas, Helv. chim. Acta 30, 1703 (1947)

(27) P. Karrer u. B. Joos, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 141, 311 (1924)

(28) K.H. Meyer u. P. Gürtler, Helv. chim. Acta 30, 761 (1947)

(29) B. Drake, Biochem. Z. 313, 388 (1942)

(30) F. Stüde, Liebigs Ann. Chem. 131, 241 (1864)

(31) P. Karrer, M. Staub, A. Weinhagen u. B. Joos, Helv. chim. Acta 7, 144, 159, 916 (1924)

(32) A. Ulander, Dissertation Göttingen 1905

(33) F. A. Isherwood u. M. A. Jermyn, Biochem. J. 48, 515 (1951)

(34) G. Klein, Handb. d. Pflanzenanalyse, II. Bd., Spez. Analyse I, 832 ff.

L e b e n s l a u f

Am 23. April 1926 wurde ich als dritter Sohn des praktischen Arztes Johannes Dietrich und seiner Ehefrau Else, geb. Schirmer, in Hof an der Saale geboren. Meine Jugend verlebte ich im Elternhaus.

Von Ostern 1933 bis Ostern 1938 besuchte ich die Volksschule und trat anschließend in die Oberschule für Jungen in Hof über, die ich im Frühjahr 1944 wegen meiner Einberufung zum Wehrdienst verlassen mußte. Nach kurzer militärischer Ausbildung kam ich in Frankreich zum Fronteinsatz und geriet am 8. Okrober 1944 bei Kampfhandlungen südlich von Metz in amerikanische Kriegsgefangenschaft. Im Dezember 1946 wurde ich entlassen und trat nach halbjähriger privater Vorbereitung im Sommer 1947 in die 8. Klasse der Oberrealschule Hof ein. Im Juli 1948 legte ich die Reifeprüfung ab.

Von Beginn des Wintersemesters 1948/49 bis zum Ende des Sommersemesters 1955 war ich ohne Unterbrechung in der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Würzburg für das Fachstudium der Chemie immatrikuliert. In dessen Verlauf unterzog ich mich im November 1951 mit Erfolg der Diplom-Vorprüfung für Chemiker und legte im November 1954 die Diplom-Hauptprüfung mit gut ab.

Ich habe mich noch nicht bei einer anderen Fakultät um den Doktorgrad beworben.

Ich versichere hiermit an Eides Statt, daß die gemachten Angaben der Wahrheit entsprechen und daß ich keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.